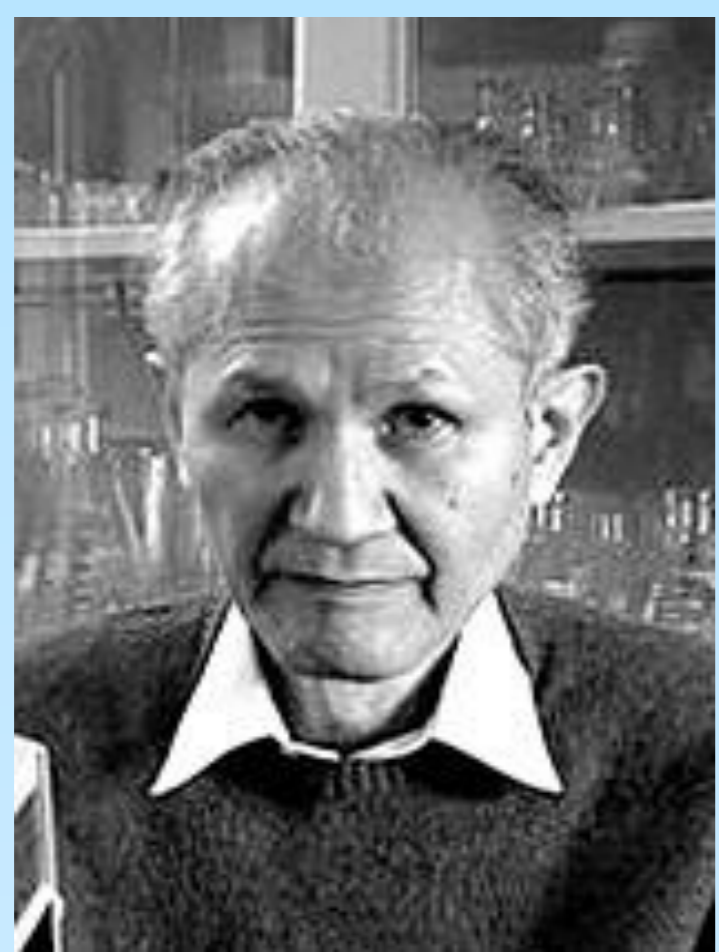


La GFP révolutionne la recherche

DE SCHEPPER Tom, DOGHMI Samia, JAVARY Joaquim et VAN BRANTEGHEM Jennifer
Sciences Biomédicales

Dans certaines conditions, la méduse *Aequoria victoria* fluoresce ...

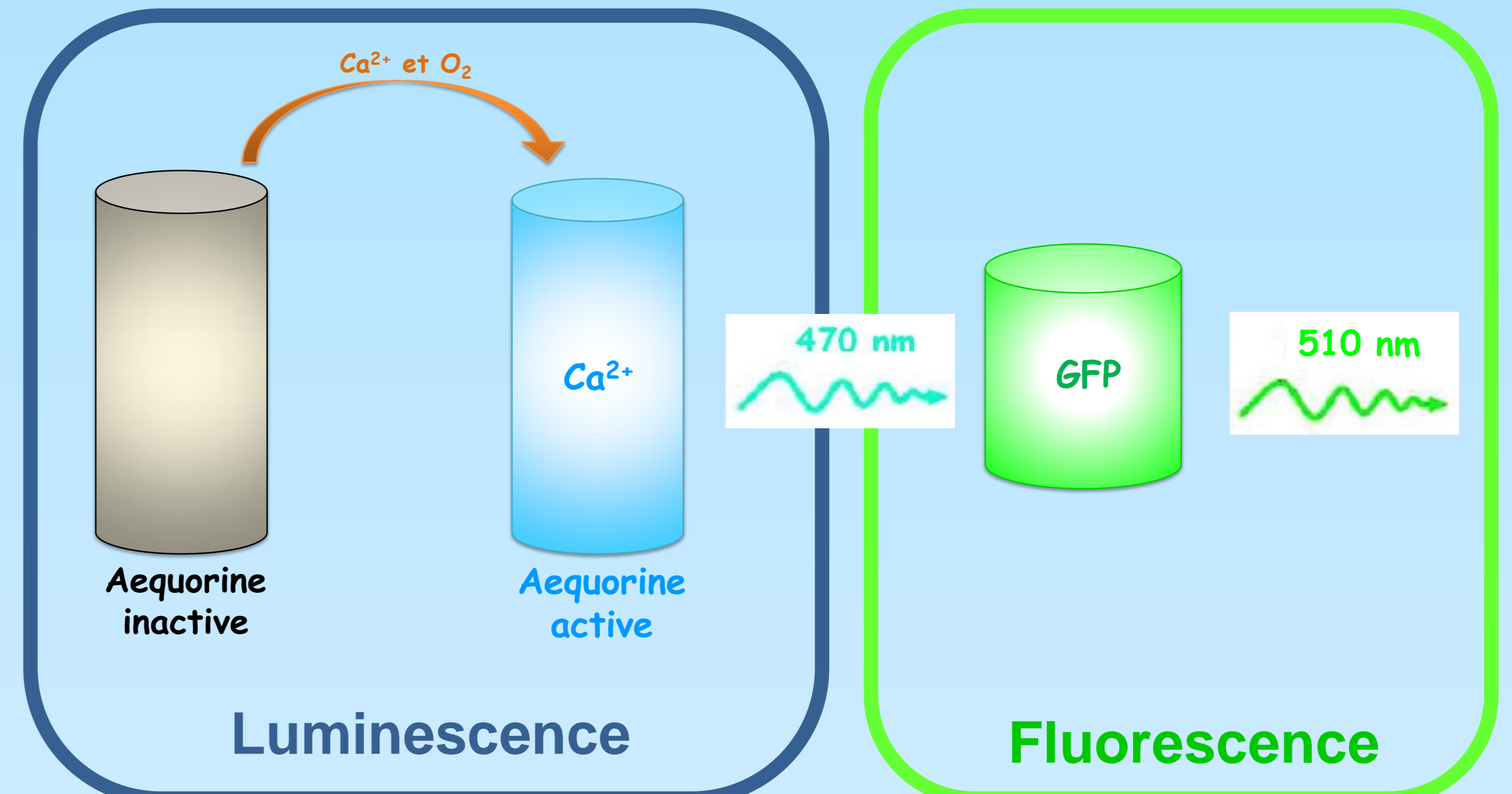


Shimomura découvre en 1962 une protéine responsable de la fluorescence verte d'une méduse : **Aequorea Victoria**. Cette protéine fut appelée **GFP** de l'anglais **Green Fluorescent Protein**. Chez *Aequorea Victoria*, présente sur les côtes ouest des Etats-Unis, le rôle de cette fluorescence semble être mal connu, il pourrait servir à éloigner les prédateurs ou bien attirer des partenaires pour se reproduire.



<http://www.mondial-infos.fr/wp-content/uploads/2008/10/aequorea-victoria.jpg>

Une méduse fluorescente ? Oui ! Mais comment ?



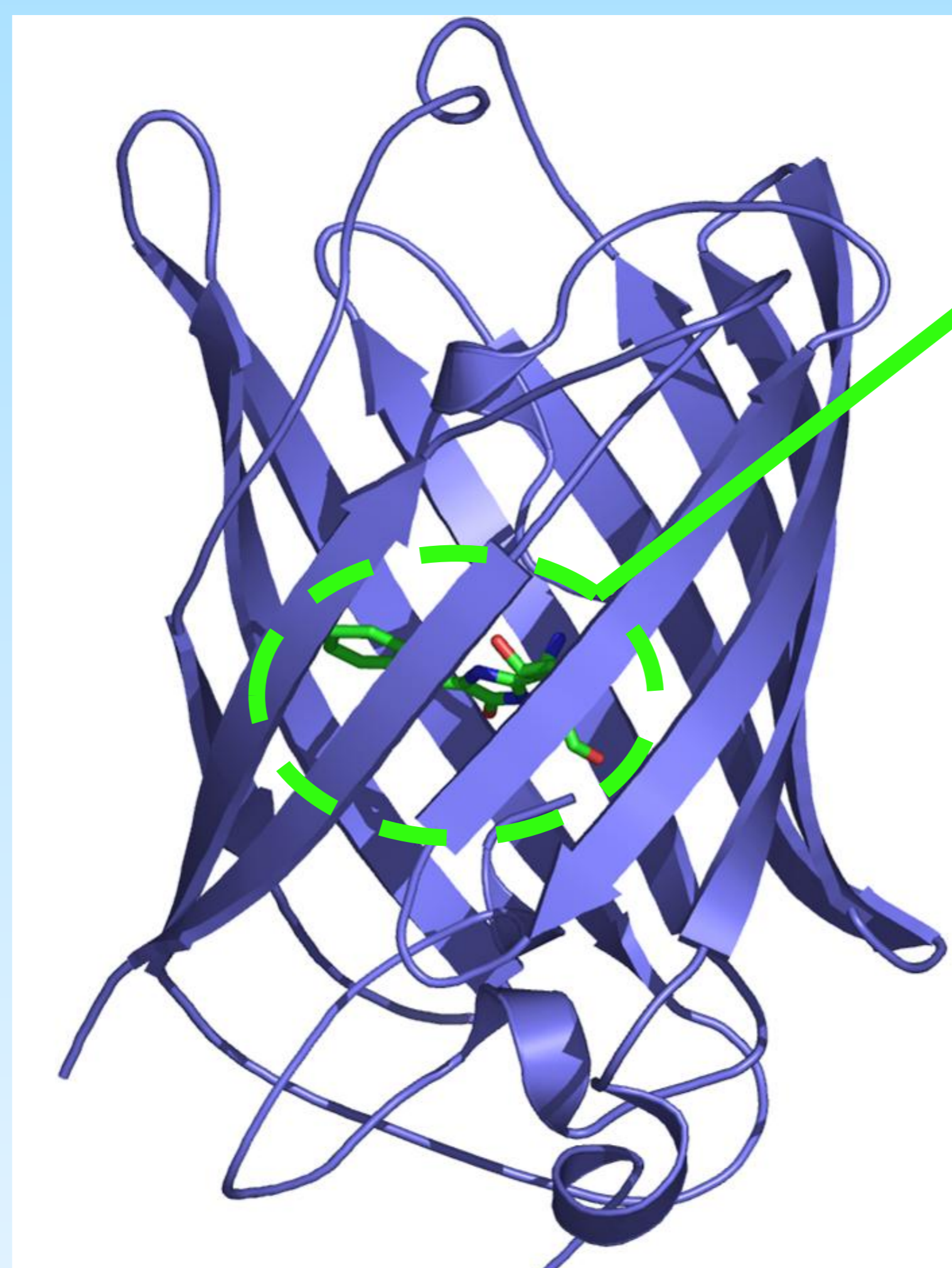
L'aequorine est une protéine luminescente présente dans la méduse, capable d'émettre de la lumière bleue lors d'une réaction d'oxydation induite par une augmentation de calcium intracellulaire.

La GFP est capable d'absorber cette énergie lumineuse et de la restituer rapidement sous forme de lumière verte.

Qu'est-ce que la GFP?

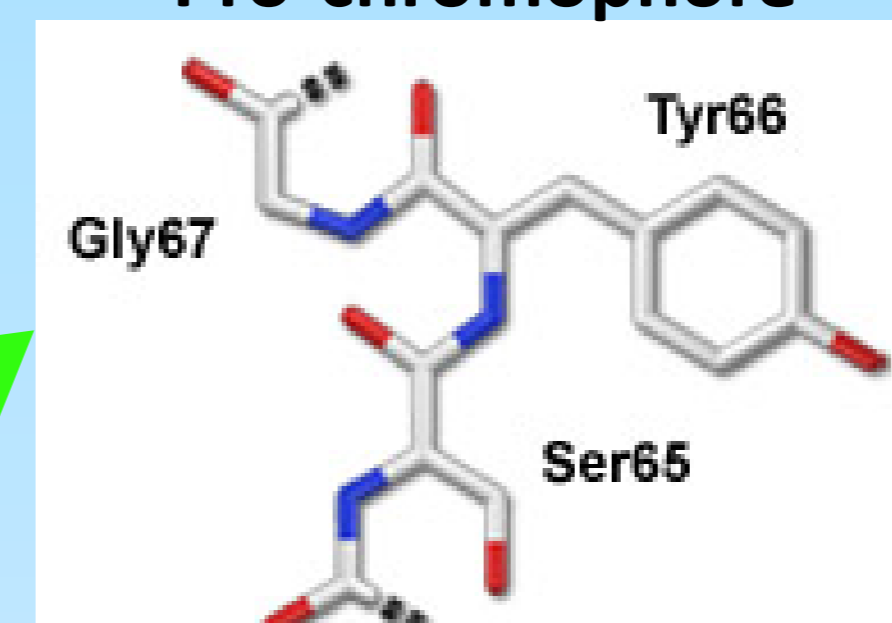
La GFP est une protéine de petite taille.

Sa structure tridimensionnelle est en forme de tonneau qui constitue une cage contenant le chromophore, cœur fluorescent de la protéine. Elle est très stable : elle résiste à des températures élevées (65°C) et des pH variables.



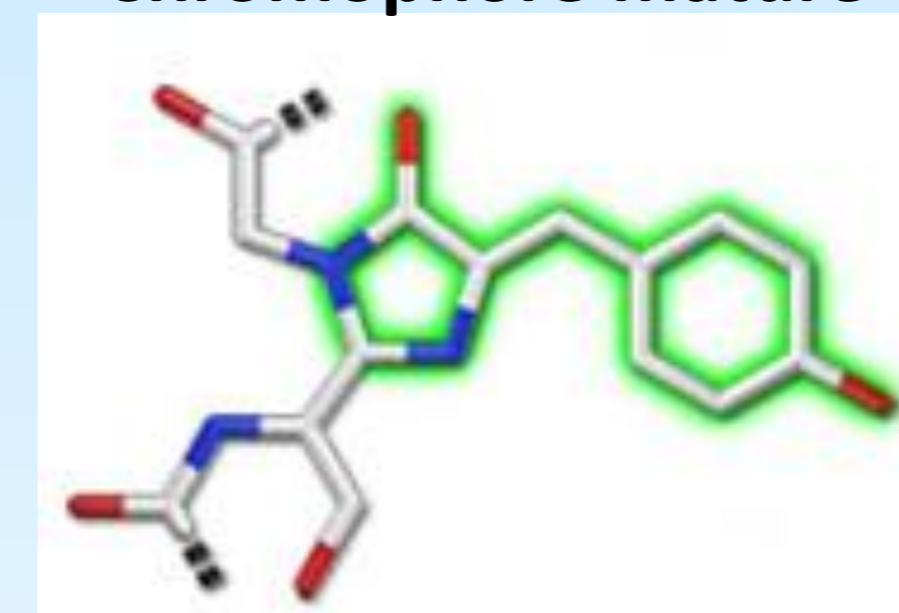
<http://therosmannfold.blogspot.com/>

Pro-chromophore



Cyclisation
Déshydratation
Oxydation

Chromophore mature



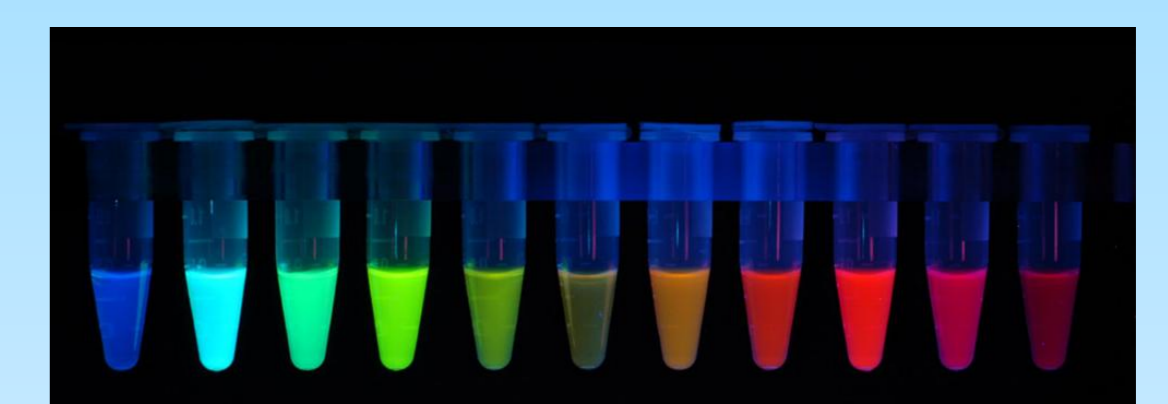
<http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/articles/probes/jellyfishfps.html>

La structure responsable de la fluorescence, est composée de trois acides aminés : Serine - Tyrosine - Glycine. Ce groupement va subir plusieurs réactions afin de former le chromophore. Il peut être excité par deux longueurs d'onde : 395nm (UV) et 470nm (lumière bleue) et émettre une lumière verte dont la longueur d'onde est de 510nm.

Une palette de couleurs devenue indispensable en recherche...



Roger Y. Tsien a échangé différents acides aminés qui forment le chromophore de la GFP afin d'obtenir des protéines avec une plus forte intensité de fluorescence mais également un large panel de couleurs (cyan, jaune, rouge,...).

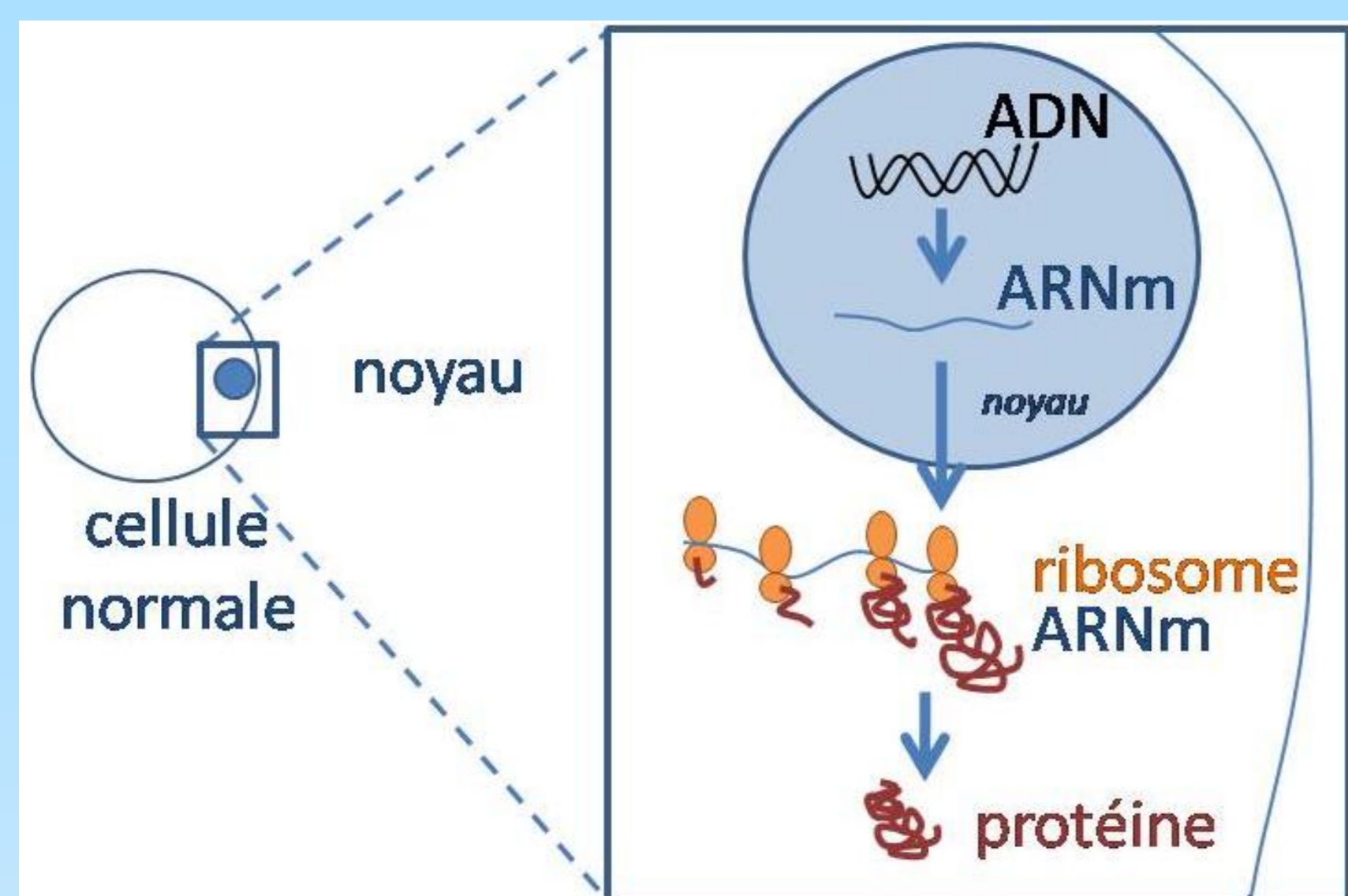


<http://www.tsienlab.ucsd.edu/Images/General/IMAGE-%20Composite.jpg>

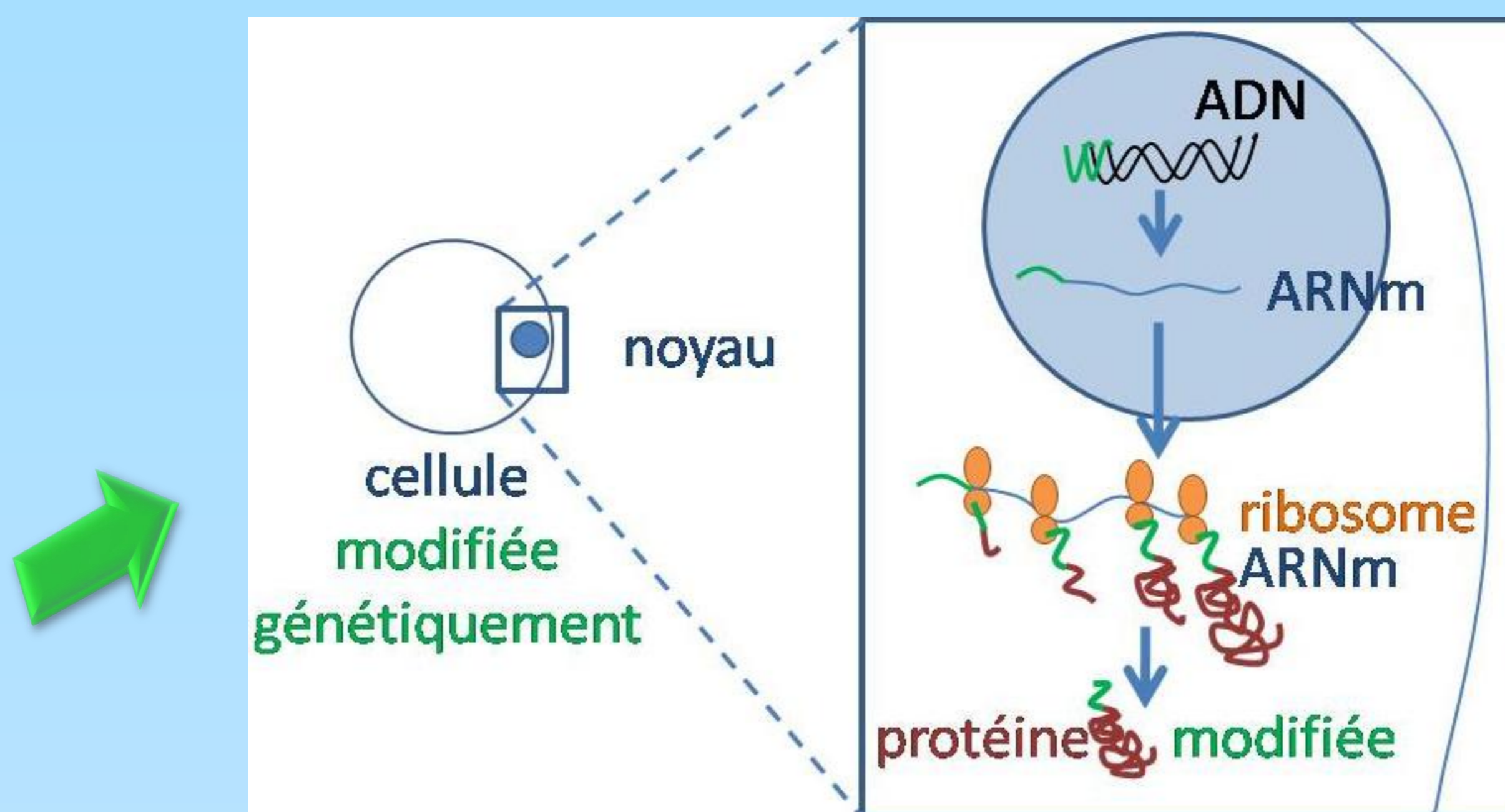
La GFP illumine la biologie

DE SCHEPPER Tom, DOGHMI Samia, JAVARY Joaquim et VAN BRANTEGHEM Jennifer
Sciences Biomédicales

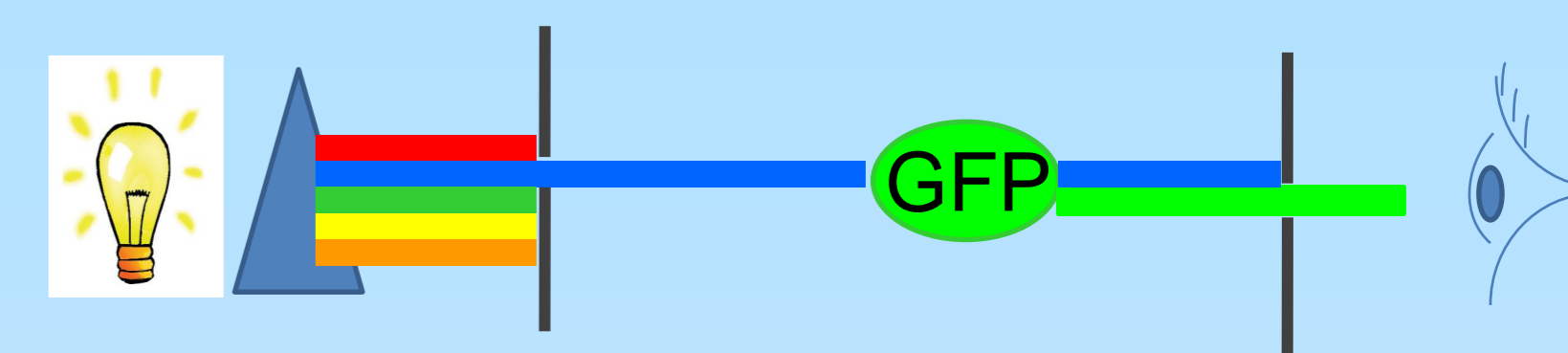
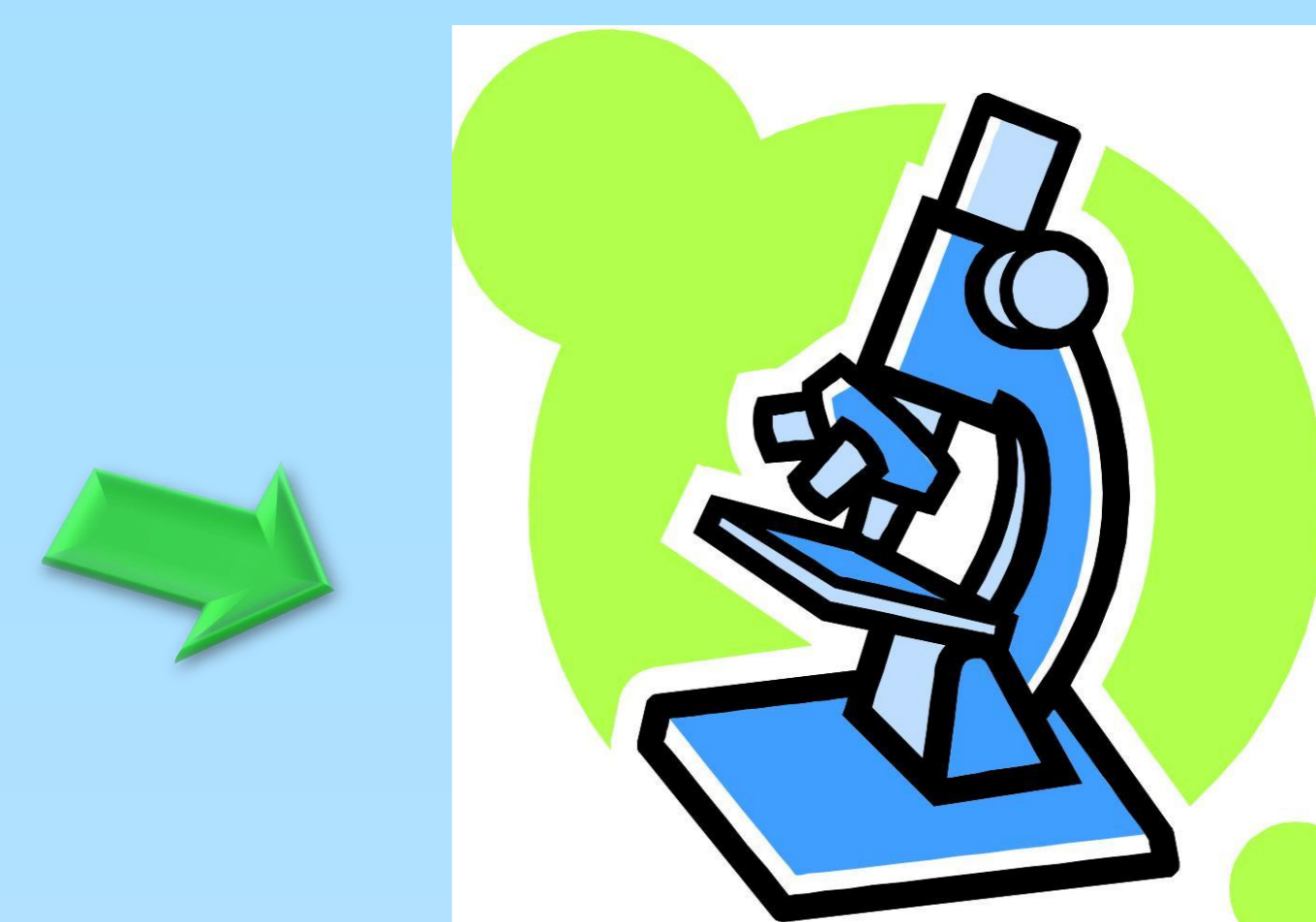
Comment mettre à profit la GFP ? Par génie génétique !



Dans une cellule, l'**ADN** est transcrit en ARN messager qui sera ensuite traduit en **protéine**. Cette traduction est réalisée par les ribosomes qui assemblent les acides aminés composant les protéines.



Par **transgénèse**, on insère le gène de la GFP avec le gène d'intérêt de manière à produire une protéine de fusion, comprenant la protéine d'intérêt et la GFP.

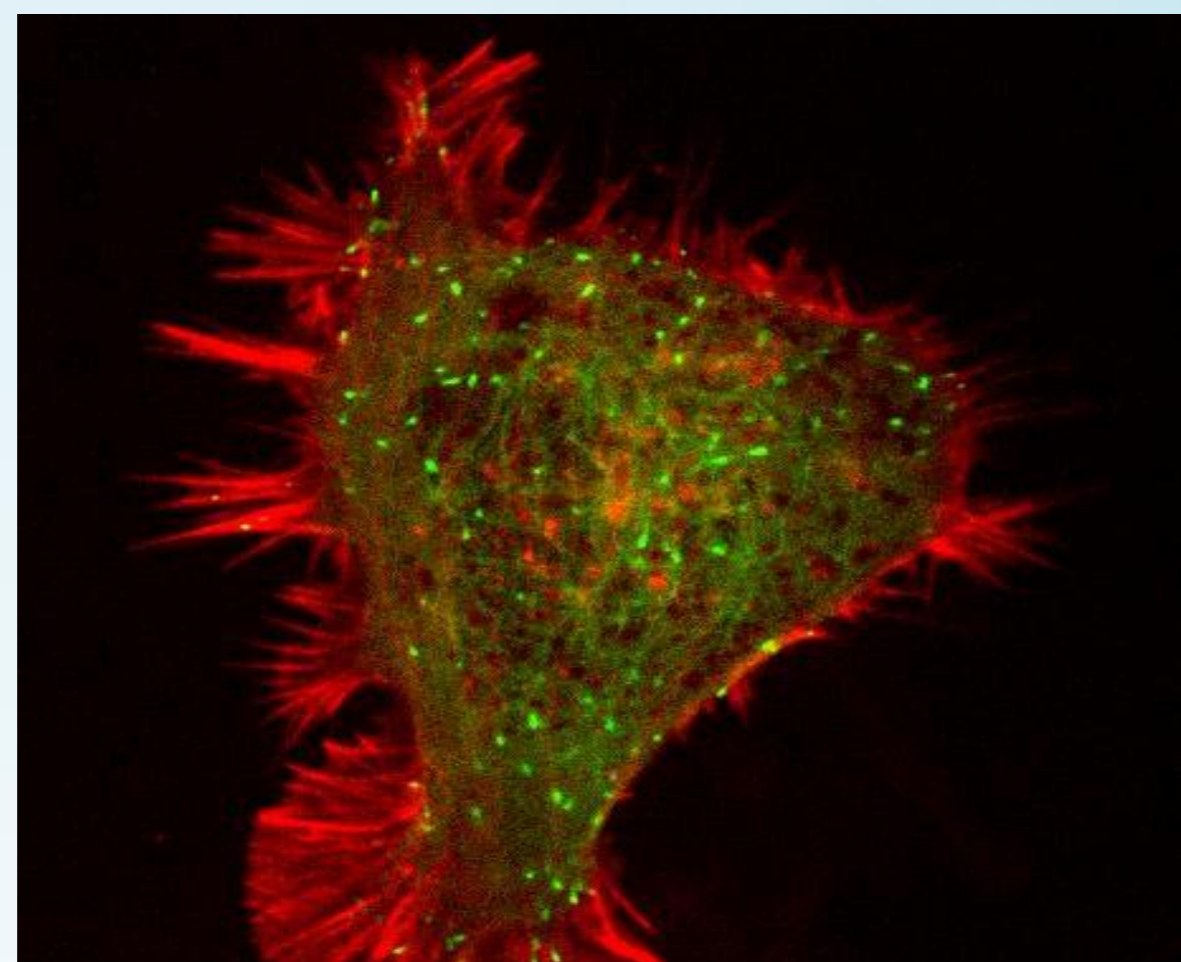


La GFP étant fluorescente, la protéine d'intérêt fusionnée à la GFP sera donc visible au microscope si on l'expose à une lumière bleue via un système de filtres. Ainsi, les protéines « s'allument » littéralement.

Les applications sont multiples...

Localisation subcellulaire :

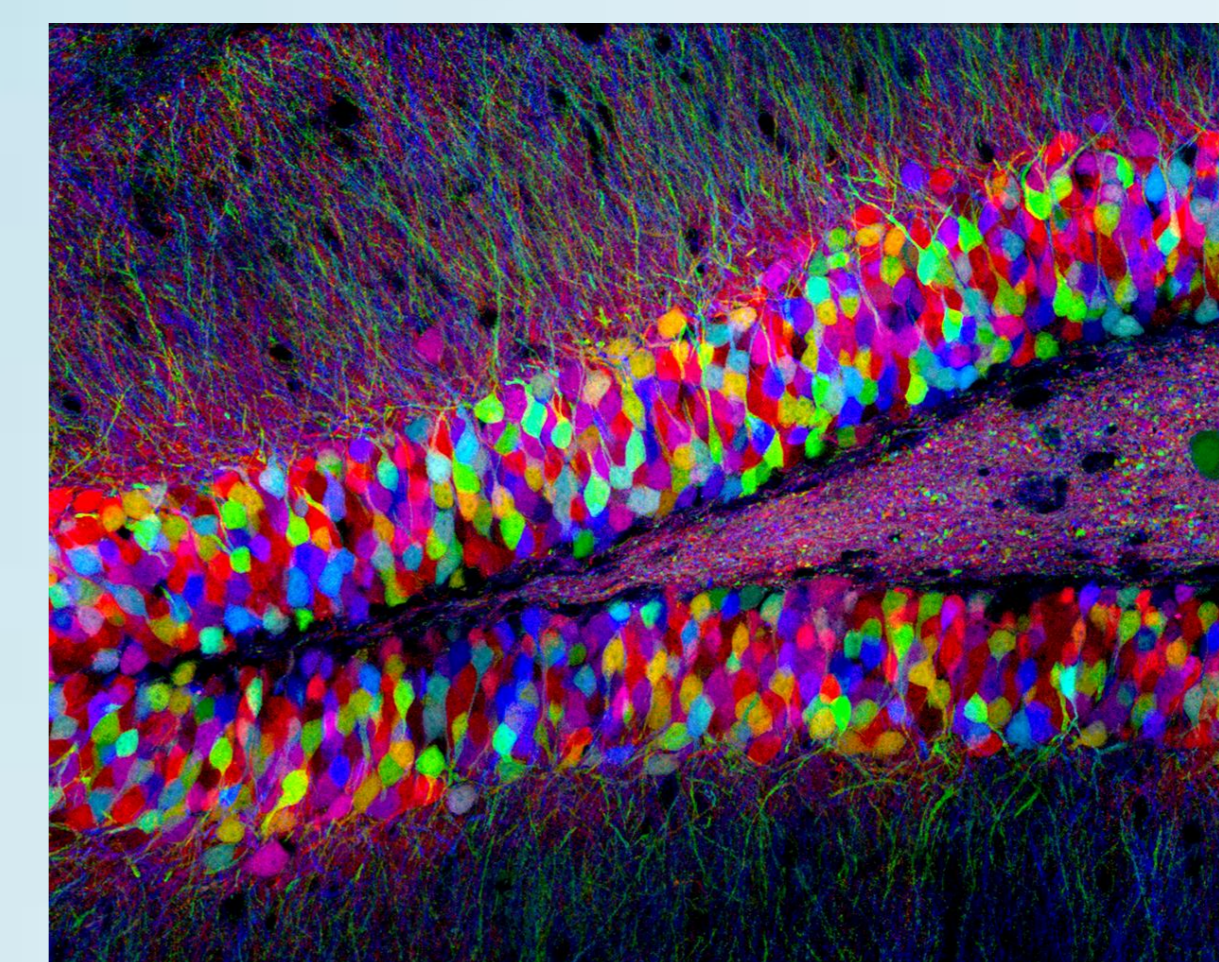
Visualisation de l'actine en rouge (fusion mcherry-actine) et des microtubules en vert (fusion GFP-EB1) dans une cellule neuronale.



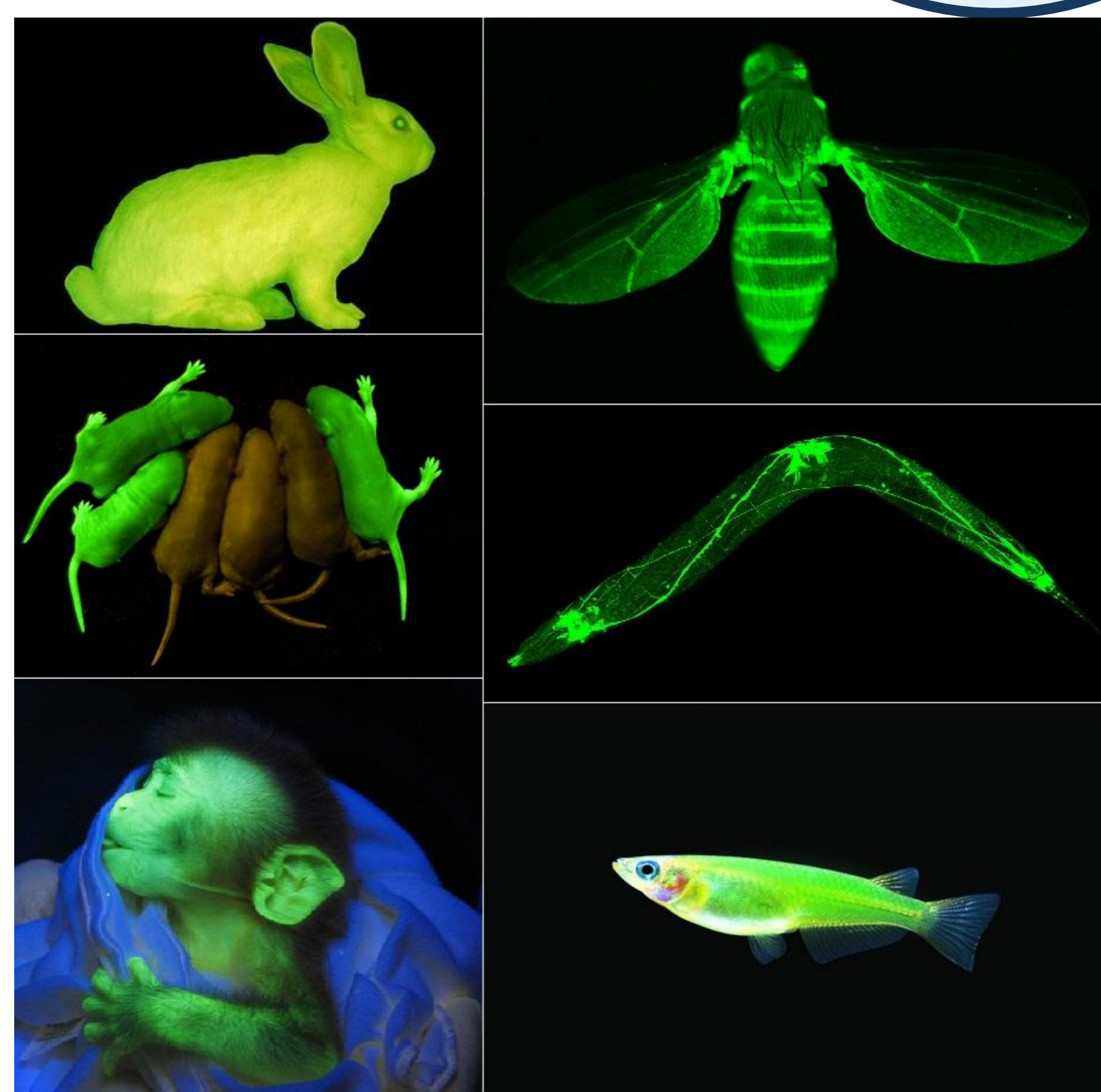
<http://www.ijm.fr/ijm/recherche/equipes/complexes-macromoleculaires-en-cellules-vivantes/>

Localisation cellulaire :

Observation et compréhension de l'organisation des réseaux neuronaux de souris en fusionnant différentes protéines fluorescentes à des protéines spécifiques de chaque type de neurone (« Brainbow » ou arc-en-ciel cérébral).



<http://www.conncad.com/gallery/weissman1-1280x1024.png>



<http://wondreal.blogspot.com/2011/09/gfp.html>

GlowFish : Des chercheurs ont modifié le génome du Zebrafish (poisson zèbre) pour lui donner une couleur verte afin de l'utiliser comme indicateur de pollution aquatique. Dès lors, si le poisson vit dans une eau contaminée contenant des métaux lourds, le poisson deviendra vert. Ceci s'explique par le fait que le gène de la GFP a été inséré sous la dépendance d'un promoteur spécifique activé en présence de métaux lourds.

Le public a été attiré par ces poissons bariolés et cela a conduit à la commercialisation des GlowFish® et à la modification de plusieurs organismes afin de les rendre fluorescents.